



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003831

(51) **A01G 22/00; C12N 1/20; A01B 79/02**
2021.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00389

(22) 12/09/2022

(45) 25/11/2024 440

(43) 25/11/2022 416

(73) Trường Đại học Thủy Lợi (VN)

175 Tây Sơn, Trung Liệt, Đống Đa, Hà Nội

(72) Phạm Thị Hồng (VN); Jean-Luc Maeght (FR); Nguyễn Thị Thế Nguyên (VN).

(54) **QUY TRÌNH CẢI TẠO ĐẤT NHIỄM MẶN ĐỂ TRỒNG RAU HỮU CƠ**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn;

(ii) phối trộn chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn với đất; và

(iii) lắp đặt hệ thống tưới nhỏ giọt và trồng cây canh tác.

Quy trình này ứng dụng vì sinh vật có khả năng sống trong môi trường đất mặn, tiết dịch giảm độ linh động của muối và kích thích hormon sinh trưởng của cây trồng, kết hợp với biện pháp tưới nhỏ giọt. Trong bối cảnh biến đổi khí hậu nước biển dâng cao làm ngập các vùng đất, việc cải tạo đất nhiễm mặn do ảnh hưởng của biển là điều vô cùng cần thiết để thích nghi với biến đổi khí hậu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực môi trường, cụ thể là sáng chế đề cập đến quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ bằng cách ứng dụng vi sinh vật có khả năng sống trong môi trường đất mặn, tiết dịch giảm độ linh động của muối và kích thích hormon sinh trưởng của cây trồng, kết hợp với biện pháp tưới nhỏ giọt. Trong bối cảnh biến đổi khí hậu nước biển dâng cao làm ngập các vùng đất, việc cải tạo đất nhiễm mặn do ảnh hưởng của biển là điều vô cùng cần thiết để thích nghi với biến đổi khí hậu.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay, trong bối cảnh biến đổi khí hậu, hiện tượng hạn hán, xâm mặn có xu hướng diễn ra ngày càng phức tạp và nghiêm trọng. Ảnh hưởng của mặn tác động đến cây trồng là vô cùng lớn. Mặn khiến cho cây trồng không hấp thụ được nước, chất dinh dưỡng và thậm chí gây chết do ngộ độc. Chính vì vậy, rất cần có những giải pháp chống mặn để phục vụ sản xuất nông nghiệp.

Nhiều các biện pháp đã được nghiên cứu để là giảm tác động của đất nhiễm mặn và tăng năng suất cây trồng như biện pháp rửa mặn đất bằng nước, bón vôi, hay cày xới. Tuy nhiên, các biện pháp này khó đạt hiệu quả cao trong điều kiện hạn hán do ion Na^+ thường xâm nhập và tích lũy cao trong keo đất và cần một lượng lớn nước ngọt để rửa cũng như đòi hỏi hệ thống thủy lợi tốt, sẽ rất tốn kém. Biện pháp được khuyến cáo hiện nay để cải tạo đất nhiễm mặn theo hướng kinh tế, bền vững về môi trường là sử dụng cây trồng hấp thụ mặn. Tuy nhiên đất nhiễm mặn cao có nồng độ muối vượt quá khả năng chịu mặn của thực vật rất khó thực hiện biện pháp cải tạo bằng thực vật.

Hiện nay các biện pháp sử dụng các vật liệu đưa vào đất như than sinh học (biochar) đang được chứng minh là hiệu quả đối với cải tạo đất mặn. Vì biochar sẽ làm giảm sự linh động của muối và làm tăng cường sự phát triển của vi sinh vật

trong đất nhờ sự phát triển vi sinh trong các mao quản của biochar. Tuy nhiên, một trong các hạn chế trong việc sử dụng than sinh học (bioachar) để đưa vào đất đó là không thực hiện được trên diện tích lớn. Mùn ủ là một trong những vật liệu thay thế biochar do vừa tăng được diện tích bề mặt, bổ sung được dinh dưỡng và vi sinh vật cho đất, vừa làm giảm độ linh động của muối một hiệu quả.

Hiện nay một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, các cây trồng có thể sinh trưởng và phát triển bình thường trong các điều kiện khắc nghiệt như hạn chế dinh dưỡng, mặn hóa và khô hạn là nhờ vai trò rất lớn của hệ vi sinh vật. Trong đó hệ vi sinh vật cố định nitơ, hệ vi khuẩn thích thích hormon sinh trưởng cây trồng đóng vai trò chính trong việc duy trì tốc độ phát triển của cây trồng. Tại thời điểm hiện tại các thống số các loài vi khuẩn có khả năng sinh hormon kích thích cây trồng trong điều kiện bất lợi còn rất hạn chế. Chưa có nhiều các nghiên cứu công bố về mức sinh các hormon sinh trưởng khả năng hấp thu muối của các loài vi khuẩn trên và mức độ ứng dụng của chúng trong nông nghiệp để cải tạo đất cho trồng rau hữu cơ. Vì vậy việc đưa vi sinh vật vào trong đất canh tác rau hữu cơ trong điều kiện chất lượng đất đang ảnh hưởng bởi các điều kiện thời tiết cực đoan là rất cần thiết và khả thi.

Ngoài biện pháp trên còn có thêm các biện pháp tưới thủy lợi để rửa trôi các muối dần tan xuống tầng đất dưới. Phương pháp này cần nước ngọt có chất lượng tốt, ít ion trao đổi để rửa các ion tầng trên tầng rễ xuống bên dưới. Phương pháp này sử dụng tốt nhất đối với đất có độ ẩm thấp và mực nước ngầm sâu. Gần đây phương pháp này được cải tiến rất nhiều về mặt kỹ thuật để vừa rửa được muối trên bề mặt vừa thu hồi được nước sau rửa tránh ảnh hưởng tới nước ngầm. Phương pháp tưới nhỏ giọt khiến cho muối được rửa khỏi tầng đất mặt, nói bộ rễ cây phát triển tránh làm gia tăng áp lực mặn cho rễ cây và đảm bảo cây luôn có được lượng nước cần thiết và đảm bảo cân bằng nồng độ dinh dưỡng trong vùng rễ.

Mặc dù đã có những nghiên cứu về các biện pháp chống mặn, nhưng vẫn chưa có những quy trình cụ thể tận dụng một cách toàn diện các biện pháp chống mặn hiện đại, để người sản xuất nông nghiệp có thể áp dụng vào sản xuất thực tế. Vì vậy,

vẫn luôn có nhu cầu về một phương pháp cải tạo đất nhiễm mặn hiệu quả, có thể ứng dụng dễ dàng trong sản xuất nông nghiệp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã thực hiện nghiên cứu và đề xuất quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ bằng vi sinh vật cây trên cơ chất mùn cưa ủ chín kết hợp với biện pháp tưới nhỏ giọt. Quy trình theo sáng chế đã kết hợp việc sử dụng vi sinh vật với biện pháp tưới nhỏ giọt để vừa có thể giảm độ linh động của muối trong đất, tăng cường rửa trôi muối xuống tầng dưới rễ và kết hợp với trồng thực vật canh tác để lấy muối ra khỏi đất nhiễm mặn. Quy trình theo sáng chế bao gồm các bước:

- (i) chuẩn bị mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn;
- (ii) phối trộn chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn với đất; và
- (iii) lắp đặt hệ thống tưới nhỏ giọt và trồng cây canh tác.

Vi sinh vật được ủ với mùn cưa có độ xốp lớn đồng thời cung cấp dinh dưỡng của cây trồng. Đây là biện pháp giảm độ linh động muối trong đất, điều chỉnh độ muối trên bề mặt trong quá trình canh tác để tăng sức sản xuất tại những vùng đất nhiễm mặn do ảnh hưởng của biển. Biện pháp này cũng đồng thời bổ sung dinh dưỡng, đặc biệt là nitơ và phospho cho đất trong quá trình cải tạo đất. Trong quá trình phát triển, hệ vi sinh vật bổ sung bao gồm các vi sinh vật có khả năng kích thích cây trồng tiết hormon sinh trưởng và chống chịu điều kiện hạn, các vi sinh vật có khả năng cố định đạm và phân hủy phospho sẽ giúp cây rau hữu cơ chống chịu tốt trong điều kiện mặn và sử dụng tối đa dinh dưỡng hạn chế bổ sung dinh dưỡng ngoài.

Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong sáng chế là các chủng vi khuẩn chịu mặn, có khả năng phát triển tốt trong môi trường khắc nghiệt và có khả năng sinh tổng hợp các hợp chất có lợi cho đất trồng.

Nông nghiệp trồng rau hữu cơ có những quy định nghiêm ngặt riêng cho chất lượng đất đầu vào, không bón phân vô cơ và chất lượng nước tưới. Tuy nhiên sau một thời gian dài do quá trình canh tác nông nghiệp hóa học của con người, chất lượng đất đang đi xuống theo diện rộng. Các quy định không bón phân vô cơ trong nông nghiệp hữu cơ sẽ làm hạn chế nguồn dinh dưỡng cho cây trồng. Vì vậy cải tạo đất mặn bằng vi sinh vật và hệ thống tưới nhỏ giọt để trở thành quỹ đất trồng rau hữu cơ là nhu cầu cần thiết. Trong bối cảnh biến đổi khí hậu nước biển dâng cao làm ngập các vùng đất, việc cải tạo đất nhiễm mặn do ảnh hưởng của biển là điều vô cùng cần thiết để thích nghi với biến đổi khí hậu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện sơ đồ bố trí hệ thống tưới nhỏ giọt tại vị trí canh tác.

Hình 2 thể hiện cây cải ngọt tại ngày thứ 10, trong đó (A) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác mẫu CM và (B) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác mẫu C.

Hình 3 thể hiện cây cải ngọt tại ngày thứ 10, trong đó (A) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác mẫu ĐM và (B) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác mẫu Đ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ, trong đó ứng dụng vi sinh vật và biện pháp tưới nhỏ giọt và trồng thực vật canh tác. Quy trình theo sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết dưới đây.

(i) chuẩn bị mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn:

Quy trình theo sáng chế sử dụng 4 chủng vi khuẩn chịu mặn, có khả năng tổng hợp amoni, hòa tan phosphat, sinh tổng hợp hormon axit 3-idol-axetic (IAA) và polysacarit ngoại bào (exopolysaccharide - ESP) là *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7.

Các chủng vi khuẩn được phân lập từ mẫu đất lấy từ đất xã Thụy Lương, Thái Thụy, Thái Bình. Đây là vùng đất gần biển Diêm Điền cách biển một cây số, có lịch

sử nhiễm mặn do nước ngầm và gió biển đưa muối vào sâu đồng nội, có hệ vi sinh vật phát triển trên đất có khả năng chịu mặn tốt và sống được trong môi trường khắc nghiệt. Sau khi thực hiện phân lập xác định các đặc tính hóa sinh phù hợp với mong muốn, các chủng được định danh sử dụng trình tự 16S rARN và xác định là các chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* (SEQ ID NO: 01), *Bacillus subtilis* (SEQ ID NO: 02), *Bacillus licheniformis* (SEQ ID NO: 03), *Bacillus tenquilensis* (SEQ ID NO: 04), các chủng vi khuẩn này được đặt tên lần lượt là *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7. Các chủng vi khuẩn hiện đang được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Kỹ thuật môi trường, trường Đại học Thủy Lợi ở dạng thuần khiết về mặt sinh học trong môi trường YEMA (môi trường cao nấm men, manitol và aga) ở 4°C.

Thành phần môi trường YEMA: manitol 10 g, K₂HPO₄ 0,5 g, MgSO₄.7H₂O 0,2 g, NaCl 0,2 g, cao nấm men 1 g, aga 20 g, nước cất 1000 ml, độ pH=7±0,1. Môi trường được thanh trùng ở 121°C trong 15 phút.

Các chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 này đều có thể sống trong môi trường nhiệt độ cao 60°C. Trong điều kiện 60°C khuẩn lạc của chúng vẫn có khả năng phát triển bình thường trong khi đó, đối với các chủng vi sinh vật trong đất thông thường, nhiệt độ cao quá 50°C sẽ làm mất hoạt tính của protein khiến cho vi khuẩn không phát triển. Các đặc tính hóa sinh của 4 chủng vi khuẩn đã phân lập được tóm tắt tại Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: Các đặc tính hóa sinh của 4 chủng vi khuẩn đã phân lập

Tên chủng vi khuẩn đã phân lập	Khả năng giảm lượng muối linh động trong đất		Khả năng kích thích phát triển cây trồng			
	EPS (g/L)	Hấp thụ NaCl (mg/l)	Sinh IAA (µg/mL)	Phân hủy phosphat (µg/mL)	Cố định nitơ	Khả năng lên men đường

<i>Bacillus megaterium</i> DDH1	22,4	12,7	10,45	9,63	++	++
<i>Bacillus subtilis</i> DDH5	11,8	15,6	5,76	10,6	++	+++
<i>Bacillus licheniformis</i> DDH13	3,09	23,6	2,89	11,04	+	++
<i>Bacillus tenquilensis</i> DDH7	22,81	21,58	12,86	18,54	++	++

Hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn bao gồm dịch nuôi cấy trong môi trường YEMA lỏng không chứa agar của các chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 được phối trộn theo tỷ lệ mật độ vi khuẩn là *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 là 1:3:1:1 và trong đó mật độ mỗi chủng vi khuẩn đạt ít nhất 6×10^8 CFU/ml.

Nguyên liệu mùn cưa được sử dụng là mùn cưa thông thường, thu được từ các nhà máy chế biến gỗ. Sơ chế mùn cưa thu được bằng cách loại bỏ tạp chất, rác lẫn trong mùn cưa và sàng qua rây 2 mm, thu được mùn cưa sơ chế.

Trộn mùn cưa sơ chế với chế phẩm vi sinh chứa các vi sinh vật hữu ích và phân bón NPK theo tỷ lệ khối lượng mùn cưa sơ chế:chế phẩm vi sinh:phân bón NPK là 30:2:1. Phun nước trong quá trình trộn, sao cho độ ẩm khi ủ được duy trì khoảng 55%. Chế phẩm vi sinh được sử dụng là các chế phẩm vi sinh chứa các vi sinh vật hữu ích như nấm men, nấm mốc, xạ khuẩn, vi khuẩn, v.v., chế phẩm vi sinh này có thể mua sẵn trên thị trường. Phân bón NPK được sử dụng là loại thông thường và người thực hiện có thể lựa chọn và mua sẵn các loại phân bón NPK thương mại theo nhu cầu sử dụng.

Thực hiện ủ hỗn hợp mùn cưa sau khi trộn trong thời gian 30 ngày, giữ nhiệt độ đồng ủ khoảng 50°C và độ ẩm 55%. Sau kết thúc thời gian ủ, mùn cưa chuyển từ màu nâu sang màu đen khi chín, thu được mùn ủ.

Trộn mùn ủ với dịch nuôi cấy hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn theo tỷ lệ 50 ml dung dịch chứa hỗn hợp vi khuẩn: 150 ml nước: 1 kg mùn ủ, duy trì nhiệt độ ở 30°C trong 24 giờ để vi khuẩn chịu mặn phát triển ổn định và thích nghi, thu được mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn.

(ii) phối trộn mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn với đất:

Đất nhiễm mặn được sử dụng là đất mặn (độ sâu ≤ 20 cm) tại các khu vực ven biển, có độ nhiễm mặn cao. Đây thường là các vùng đất ven biển, chịu tác động của gió biển và ngập mặn do nước biển dâng. Đất được sử dụng có thể là trực tiếp tại các vị trí canh tác hoặc sẽ được chuyển tới vị trí canh tác khác vị trí lấy đất ban đầu sau khi phối trộn.

Phối trộn đất nhiễm mặn với mùn ủ thu được từ bước (i) theo tỷ lệ thể tích đất nhiễm mặn:mùn ủ là 1:1.

Đất nhiễm mặn thường có hàm lượng ion kiềm cao. Hàm lượng ion kiềm tăng lên trong đất mặn làm cho nồng độ muối trong đất mặn tăng. Hàm lượng muối trong đất mặn là nguyên nhân hạn chế sự phát triển của thực vật trong đất. Các ion tan trong đất mặn sẽ tạo áp suất cao trong môi trường xung quanh rễ khiến cho rễ cây thường xuyên mất nước hoặc cần có cơ chế tăng áp lực muối trong tế bào rễ chống lại sự mất nước do gradient nồng độ.

Mùn ủ sau khi được phối trộn với đất nhiễm mặn sẽ giúp tăng diện tích bề mặt, bổ sung dinh dưỡng và vi sinh vật cho đất, đồng thời giúp làm giảm độ linh động của muối một cách hiệu quả.

Phủ đất đã trộn mùn ủ thành luống tại vị trí canh tác. Việc thực hiện tạo luống có thể được thực hiện cho phù hợp với loại cây trồng lựa chọn để canh tác và người

có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nông nghiệp có thể thực hiện được việc tạo luống này.

(iii) lắp đặt hệ thống tưới nhỏ giọt và trồng cây canh tác:

Hệ thống tưới nhỏ giọt được lắp đặt tới từng vị trí gốc cây và tưới nước ngọt với tốc độ tưới phù hợp cho cây trồng canh tác, thông thường với tốc độ 4 lít/giờ.

Hệ thống tưới nhỏ giọt là kỹ thuật tưới cung cấp nước vào đất dưới dạng các giọt nước nhỏ ra đều đều từ công cụ hay thiết bị tạo giọt đặt tại một số điểm trên mặt đất gần gốc cây. Biện pháp tưới nhỏ giọt giúp tiết kiệm nước tưới, cung cấp đều đặn lượng nước tưới cần thiết nhưng tránh được hiện tượng tập trung muối trong nước tưới và trong đất, khắc phục hiện tượng bạc màu, rửa trôi đất tại nơi canh tác, và giúp tăng khả năng tự động hóa khâu tưới nước trong canh tác nông nghiệp.

Trồng cây hoa màu canh tác, ưu tiên là các loại rau ăn lá. Một trong những yếu tố đánh giá quá trình cải tạo đất nhiễm mặn là sự phát triển của cây trồng canh tác. Quy trình cải tạo đất nhiễm mặn theo sáng chế rất phù hợp để ứng dụng trong cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ được ứng dụng trong việc cải tạo đất nhiễm mặn tại vùng ven biển Diêm Điền, Thái Thụy, Thái Bình để trồng rau hữu cơ.

Các chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Kỹ thuật môi trường, trường Đại học Thủy Lợi được dùng là chủng giống gốc, các chủng này được nhân giống thu dịch nuôi cấy trong môi trường YEMA lỏng không chứa aga, trong đó mật độ các chủng vi khuẩn trong dịch nuôi cấy đạt 6×10^8 CFU/ml. Phối trộn các dịch nuôi cấy theo tỷ lệ mật độ vi khuẩn là *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 là 1:3:1:1.

Mùn cưa được sử dụng là mùn cưa phế thải từ các nhà máy. Sơ chế mùn cưa thu được bằng cách loại bỏ tạp chất, rác lẫn trong mùn cưa và sàng qua rây 2 mm, thu được mùn cưa sơ chế.

Trộn 3 kg mùn cưa sơ chế với 200 g chế phẩm vi sinh Fito-Biomix RR mua trên thị trường và 100 g phân bón NPK. Phun 0,5 lít nước vào hỗn hợp và trộn đều để đảm bảo độ ẩm đạt khoảng 55%.

Thực hiện ủ hỗn hợp thu được trong thùng ủ trong thời gian 30 ngày, tiến hành theo dõi các chỉ số độ ẩm, nhiệt độ, v.v., và giữ nhiệt độ ở mức khoảng 50°C và độ ẩm 55%. Nhiệt lượng được sinh ra từ chính các quá trình lên men yếm khí trong quá trình phân hủy mùn cưa, nên không cần thực hiện gia nhiệt. Sau thời gian 30 ngày, mùn ủ đã chín chuyển từ màu nâu sang màu đen.

Bổ sung dịch nuôi cấy 4 chủng vi sinh vật chịu mặn theo tỷ lệ 50 ml dung dịch chứa hỗn hợp vi khuẩn: 150 ml nước: 1 kg mùn ủ, để chúng phát triển thích nghi trong mùn ở 30 °C trong 24 giờ trước khi trộn với đất nhiễm mặn trồng rau.

Đất nhiễm mặn được sử dụng là đất mặt (độ sâu 20 cm) tại khu vực ven biển Diêm Điền, Thái Thụy, Thái Bình. Thực hiện lấy đất nhiễm mặn tại vị trí gần cách biển 2 km, có độ mặn cao là 0,9% (đất cát mặn). Trộn đất nhiễm mặn với mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn thu được ở trên theo tỷ lệ thể tích là 1:1.

Phủ đất nhiễm mặn đã trộn mùn có chứa 4 chủng vi sinh vật ủ thành luống tại vị trí canh tác, luống được tạo để phù hợp cho việc trồng cải ngọt.

Hệ thống tưới nhỏ giọt được lắp đặt tới từng vị trí gốc cây (Hình 1) và thực hiện tưới nước ngọt với tốc độ tưới là 4 lít/giờ.

Trồng cải ngọt theo cách thức canh tác thông thường tại luống đã được tạo tại vị trí canh tác. Mẫu được gọi tắt là CM.

Thực hiện tương tự các bước như trên, với mẫu đất mặt tại khu vực ven biển Diêm Điền, Thái Thụy, Thái Bình, tại vị trí cách biển 2 km. Đây là đất được lấy từ khu vực đất ruộng canh tác lúa và hoa màu (đất ít mặn). Mẫu được gọi tắt là ĐM.

Để so sánh hiệu quả đạt được của quy trình cải tạo đất nhiễm mặn, thực hiện đồng thời việc trồng cải ngọt và điều kiện canh tác (tạo luống, chế độ tưới) tương tự như trên với mẫu đất cát mặn và đất ít mặn không trộn với mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn. Mẫu được gọi tắt lần lượt là C và Đ.

Kết quả phân tích các thành phần tính chất cơ bản của 2 mẫu đất ban đầu và 2 mẫu đất sau khi được phối trộn với mùn ủ được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2: Thành phần tính chất cơ bản trong các mẫu đất

Tên mẫu	Kí hiệu	pH	Độ Muối (%)	Độ cứng	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	K (mg/L)	Na (mg/l)
Đất cát mặn	C	7,27	0,9	10	48,10	92,42	3,6	17,2
Đất (ít mặn)	Đ	7,32	0,4	2,4	17,64	12,65	2,8	11,4
Đất cát mặn (v)-mùn ủ (v) (1:1)	CM	6,79	0,4	4	41,68	23,35	10,4	15,9
Đất ít mặn (v): mùn ủ (v) (1:1)	ĐM	7,45	0,3	2,64	30,46	13,62	6,2	12

Đất cát mặn ban đầu có độ muối là 0,9% thuộc loại đất mặn trung bình, với nồng độ các ion kim loại cần thiết cho cây trồng Ca, Mg, K, Na, lần lượt là 48,10; 92,42; 3,6; 17,2 (mg/l). Các ion kiềm thường xuất hiện nhiều trong các đất mặn do ảnh hưởng của nước biển và muối biển đưa vào. Một số nguyên nhân khác khiến đất mặn có nhiều ion kiềm đó là do các ion này được đưa từ nước ngầm lên mặt đất. Đối với mẫu đất có nồng độ muối thấp hơn (mẫu đất ít mặn), do ở sâu trong lục địa nên không bị ảnh hưởng bởi các hoạt động của biển, và các ion kiềm Ca, Mg, K, Na, có giá trị lần lượt là 0,4; 2,4; 17,64; 12,65; 2,8; 11,4 mg/l, thấp hơn rất nhiều so với đất mặn cao (mẫu đất cát mặn).

Ở độ muối và pH không có sự chênh lệch nhiều giữa 2 mẫu đất, các chỉ số còn lại đều có sự chênh lệch lớn. Hàm lượng các ion kiềm Ca, Mg, K, Na của đất cát mặn (C) cao hơn của đất ít mặn (Đ).

Hai loại đất mặn sau khi được trộn với mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn có sự biến đổi về thành phần các kim loại và độ muối. Độ muối của hai mẫu đất sau khi phối trộn với mùn ủ đều giảm xuống, mẫu đất cát mặn từ 0,9% còn 0,4% và mẫu đất ít mặn từ 0,4% còn 0,3%, nằm trong khoảng đất có độ mặn ít, mở rộng được khoảng ứng dụng của đất (đối với đất cát mặn). Sau khi trộn với vật liệu mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn, nồng độ các ion Ca, Mg trong mẫu đất C giảm mạnh, lần lượt là 20% và 78 % trong khi nồng độ các ion Na, K tăng nhẹ (74%). Điều này thể hiện ưu điểm của biện pháp cải tạo đất nhiễm mặn dùng mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn kết hợp với các biện pháp tưới nhỏ giọt tại chỗ. Nguyên nhân là Na, K là các ion kiềm dễ bị rửa trôi và sẽ giảm trên bề mặt khi áp dụng cùng biện pháp tưới nhỏ giọt.

Đối với mẫu đất có độ mặn nhỏ (Đ), do hàm lượng các ion kiềm ban đầu của đất nhỏ, sau khi áp dụng trộn mùn thì giá trị tất cả các ion kiềm Ca, Na, K, Mg đều tăng lên lần lượt 46,01%, 3,6%, 55,3%, 8,2%.

Đo các chỉ số của rau cải ngọt được trồng tại vị trí canh tác cho từng mẫu đất.

Chiều cao trung bình của cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác cho từng mẫu đất được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây.

Bảng 3: Chiều cao trung bình của cây cải ngọt trồng tại các vị trí canh tác

Tên mẫu	Ngày thứ 1 (cm)	Ngày thứ 5 (cm)	Ngày thứ 10 (cm)	Ngày thứ 15 (cm)	Ngày thứ 20 (cm)	Ngày thứ 25 (cm)	Ngày thứ 30 (cm)
Đất cát mặn (mẫu C)	0,5	3,2	4,3	6,3	7,8	8,5	10,5
Đất ít mặn (mẫu Đ)	1,2	4	6	9,5	12,5	14	16,5
Đất cát mặn - mùn ủ (mẫu CM)	1	2,5	5,5	8	9,5	11	13
Đất ít mặn - mùn ủ (mẫu DM)	1,4	5	7,5	10	13	15,5	17

Hình 2 thể hiện cây cải ngọt tại ngày thứ 10, trong đó (A) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác CM và (B) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác C. Hình 3 thể hiện cây cải ngọt tại ngày thứ 10, trong đó (A) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác DM và (B) cây cải ngọt trồng tại vị trí canh tác Đ.

Từ các kết quả trên cho thấy, chiều cao của các cây đều có sự phát triển theo thời gian. Trong đó, mẫu đất cát mặn (C) có sự phát triển kém nhất, còn 3 mẫu còn lại có sự phát triển chiều cao cây đều nằm trong phạm vi phát triển bình thường của cây cải ngọt.

Ngoài ra, kết quả tại Bảng 3 cũng đã chỉ ra rằng việc kết hợp mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn và biện pháp tưới nhỏ giọt đã giúp thu được hiệu quả tốt hơn

so với biện pháp thực hiện phương pháp tưới nhỏ giọt thông thường, chứng minh được hiệu quả của quy trình cải tạo đất nhiễm mặn này.

Quy trình cải tạo đất nhiễm mặn này thích hợp để áp dụng trồng rau hữu cơ. Mùn cưa sau quá trình ủ được các vi khuẩn phân hủy xenluloza và lignin, làm tăng diện tích bề mặt hấp phụ của vật liệu. Bề mặt vật liệu xuất hiện các gốc hữu cơ chức năng như $-COOH$, $-CHO$, $-OH$, $-C-O-C-$ các gốc nhóm chức này sẽ hấp phụ các ion kim loại kiềm và kiềm thổ linh động có trong đất dẫn đến lượng muối linh động trong đất bị giảm. 4 chủng vi sinh vật được tuyển chọn sẽ được cấy trên mùn chúng sử dụng mùn như giá thể để phát triển. Quá trình phân hủy chất hữu cơ thành phần chính của mùn cưa tạo ra nguồn nitơ photpho ban đầu cung cấp cho cây trồng khi đưa vi sinh vật vào trong đất. Sau thời gian vi sinh vật thích ứng môi trường đất sẽ sinh sôi và phát triển trong bộ rễ và đất để cung cấp dinh dưỡng giúp cây trồng phát triển và tăng khả năng sống chịu của cây trồng. Bốn chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 đều có khả năng tích tụ muối, do đó làm giảm hàm lượng muối trong môi trường đất. Ngoài ra chúng còn có khả năng sinh ESP là dạng chất nhầy, có khả năng cố định hàm lượng muối dễ tan trong dịch đất giảm áp lực muối ở bộ rễ của cây. Cả 4 chủng đều có khả năng sinh hormon IAA kích thích sự phát triển cây trồng trong điều kiện hạn chế về dung dưỡng mà đất mặn. Ngoài ra chúng còn có khả năng cố định nitơ hòa tan phosphat kháng trong đất thành dạng dễ tiêu để cây trồng có khả năng hấp thu dễ dàng. Hệ thống tưới nhỏ giọt với tốc độ tưới chậm và liên tục sẽ giúp rửa muối xuống tầng dưới. Điều này sẽ dần cải thiện nồng độ muối và điều kiện dinh dưỡng cho trồng rau hữu cơ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình cải tạo đất nhiễm mặn để trồng rau hữu cơ bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn:

Chuẩn bị hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn bao gồm dịch nuôi cấy trong môi trường YEMA lỏng không chứa aga của các chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 được phối trộn theo tỷ lệ mật độ vi khuẩn là *Bacillus megaterium* DDH1, *Bacillus subtilis* DDH5, *Bacillus licheniformis* DDH13, *Bacillus tenquilensis* DDH7 là 1:3:1:1 và mật độ mỗi chủng vi khuẩn đạt ít nhất 6×10^8 CFU/ml, trong đó trình tự 16S rARN của chủng vi khuẩn *Bacillus megaterium* DDH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 01, của chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* DDH5 được thể hiện trong SEQ ID NO: 02, của chủng vi khuẩn *Bacillus licheniformis* DDH13 được thể hiện trong SEQ ID NO: 03 và của chủng vi khuẩn *Bacillus tenquilensis* DDH7 được thể hiện trong SEQ ID NO: 04, và các chủng này được lưu giữ ở dạng thuần khiết về mặt sinh học tại phòng thí nghiệm Kỹ thuật môi trường, trường Đại học Thủy Lợi;

Sơ chế mùn cưa bằng cách loại bỏ tạp chất, rác lẫn trong mùn cưa và sàng qua rây 2 mm, thu được mùn cưa sơ chế;

Trộn mùn cưa sơ chế với chế phẩm vi sinh chứa các chủng vi sinh vật hữu ích và phân bón NPK theo tỷ lệ khối lượng mùn cưa sơ chế:chế phẩm vi sinh:phân bón NPK là 30:2:1, phun nước trong quá trình trộn, sao cho độ ẩm khi ủ được duy trì khoảng 55%;

Thực hiện ủ hỗn hợp mùn cưa sau khi trộn trong thời gian 30 ngày, giữ nhiệt độ đồng ủ khoảng 50°C và độ ẩm 55%, thu được mùn ủ;

Trộn mùn ủ với dịch nuôi cấy hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn theo tỷ lệ 50 ml dung dịch chứa hỗn hợp vi khuẩn:150 ml nước:1 kg mùn ủ, duy trì nhiệt độ ở 30°C trong 24 giờ, thu được mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn;

(ii) phối trộn mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn với đất:

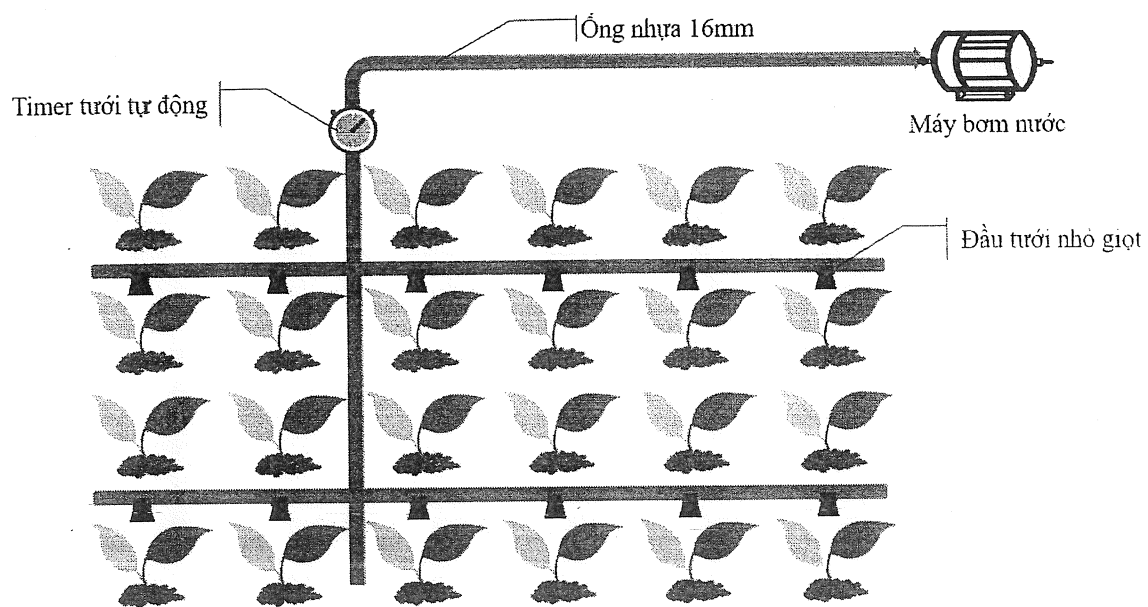
Đất nhiễm mặn được sử dụng là đất mặt có độ sâu ≤ 20 cm tại các khu vực ven biển, có độ nhiễm mặn cao;

Phối trộn đất nhiễm mặn với mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn thu được từ bước (i) theo tỷ lệ thể tích đất nhiễm mặn:mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn là 1:1;

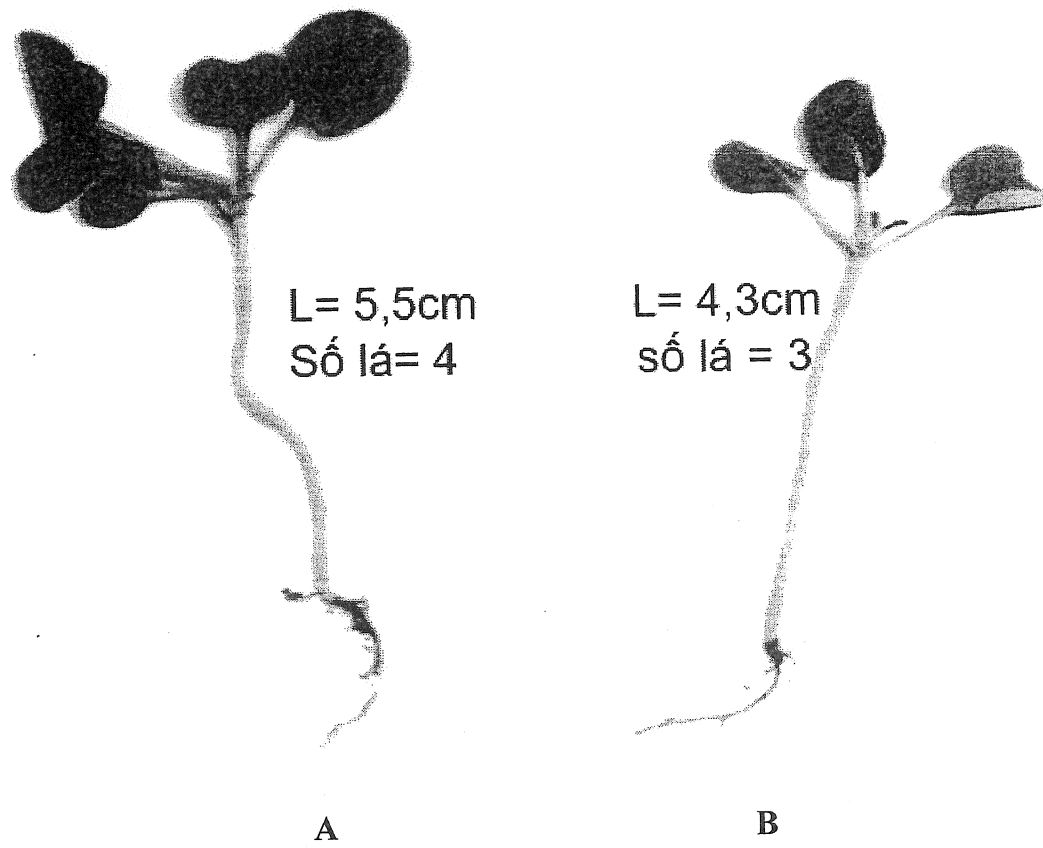
Phủ đất đã trộn mùn ủ chứa hỗn hợp vi khuẩn chịu mặn thành luống tại vị trí canh tác, trong đó việc tạo luống được thực hiện cho phù hợp với loại cây trồng lựa chọn để canh tác;

(iii) lắp đặt hệ thống tưới nhỏ giọt và trồng cây canh tác:

Lắp đặt hệ thống tưới nhỏ giọt tới từng vị trí gốc cây và tưới nước ngọt với tốc độ tưới phù hợp cho cây trồng canh tác, tốt hơn là 4 lít/giờ.



Hình 1



Hình 2

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Đại học Thủy Lợi

<120> QUY TRÌNH CẢI TẠO ĐẤT NHIỄM MẶN ĐỂ TRỒNG RAU HỮU CƠ

<160> 4

<210> 1

<211> 1360

<212> rARN

<213> Bacillus megaterium

<400> 1

```

gcttgcttct atgacgttag cggcggacgg gtgagtaaca cgtgggcaac ctgcctgtaa 60
gactgggata acttcgggaa accgaagcta ataccggata ggatcttctc cttcatggga 120
gatgattgaa agatggtttc ggctatcact tacagatggg ccgcgggtgc attagctagt 180
tggtgaggta acggctcacc aaggcaacga tgcatagccg acctgagagg gtgatcggcc 240
acactgggac tgagacacgg ccagactcc tacgggaggg agcagtaggg aatcttccgc 300
aatggacgaa agtctgacgg agcaacgccg cgtgagtgat gaaggctttc gggtcgtaaa 360
actctgttgt tagggaagaa caagtacgag agtaactgct cgtaccttga cggtaaccaa 420
ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggta atacgtaggt ggcaagcggt 480
atccggaatt attgggcgta aagcgcgcgc aggcggtttc ttaagtctga tgtgaaagcc 540
cacggctcaa ccgtggaggg tcattggaaa ctggggaact tgagtgcaga agagaaaagc 600
ggaattccac gtgtagcggg gaaatgcgta gagatgtgga ggaacaccag tggcgaaggc 660
ggcttttttg tctgtaactg acgctgaggg gcgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga 720
taccctggta gtccacgccg taaacgatga gtgctaagt ttagaggggt tccgcccttt 780
agtgtgtcag ctaacgcatt aagcactccg cctggggagt acggtcgcaa gactgaaact 840
caaaggaatt gacggggggc cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagcaacg 900
cgaagaacct taccaggtct tgacatcctc tgacaactct agagatagag cgttcccctt 960
ggggggacag agtgacaggt ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtgtcgtg agatgttggg 1020
ttaagtcccg caacgagcgc aacccttgat cttagttgcc agcatttagt tgggcactct 1080
aaggtgactg ccggtgacaa accggaggaa ggtggggatg acgtcaaata atcatgcccc 1140
ttatgacctg ggctacacac gtgctacaat ggtgggtaca aagggtgca agaccgcgag 1200

```

gtcaagccaa tcccataaaa ccattctcag ttccgattgt aggcctgcaac tcgcctacat 1260
 gaagctggaa tcgctagtaa tcgcggatca gcatgccgcg gtgaatacgt tcccgggcct 1320
 tgtacacacc gcccgtcaca ccacgagagt ttgtaacacc 1360

<210> 2

<211> 1393

<212> rARN

<213> *Bacillus subtilis*

<400> 2

agtcgagcgg acagatggga gcttgctccc tgatgttagc ggcggaacggg tgagtaaacac 60
 gtgggtaaac tgcctgtaag actgggataa ctccgggaaa ccgggggctaa taccggatgg 120
 ttgtttgaac cgcattggtc aaacataaaa ggtggcttcg gctaccactt acagatggac 180
 ccgcggcgca ttagctagtt ggtgaggtaa cggctcacca aggcaacgat gcgtagccga 240
 cctgagaggg tgatcgcca cactgggact gagacacggc ccagactcct acgggaggca 300
 gcagtaggga atcttccgca atggacgaaa gtctgacgga gcaacgccgc gtgagtgatg 360
 aaggttttcg gatcgtaaag ctctgttggt agggagaac aagtaccgtt cgaatagggc 420
 ggtaccttga cggtaacctaa ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggta 480
 atacgtaggt ggcaagcgtt gtccggaatt attgggcgta aagggtctgc aggcggtttc 540
 ttaagtctga tgtgaaagcc cccggctcaa ccggggaggg tcattggaaa ctggggaact 600
 tgagtgcaga agaggagagt ggaattccac gtgtagcggg gaaatgcgta gagatgtgga 660
 ggaacaccag tggcgaaggc gactctctgg tctgtaactg acgtgagga gcgaaagcgt 720
 ggggagcgaa caggattaga taccctggta gtccacgccg taaacgatga gtgctaagtg 780
 ttaggggggt tccgccctt agtgctgcag ctaacgcatt aagcactccg cctggggagt 840
 acggtcgcaa gactgaaact caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gtggagcatg 900
 tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct tgacatcctc tgacaatcct 960
 agagatagga cgtccccttc gggggcagag tgacaggtgg tgcattggtg tcgtcagctc 1020
 gtgtcgtgag atgttggtt aagtcccgca acgagcgcaa cccttgatct tagttgccag 1080
 cattcagttg ggcactctaa ggtgactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac 1140
 gtcaaatac catgcccctt atgacctggg ctacacacgt gctacaatgg acagaacaaa 1200
 gggcagcgaa accgcgaggt taagccaatc ccacaaatct gttctcagtt cggatcgag 1260
 tctgcaactc gactgcgtga agctggaatc gctagtaatc gcggatcagc atgccgcggg 1320

gaatacgttc cggggccttg tacacaccgc cgcgcacacc acgagagttt gtaacacccg 1380
 aagtcggtga ggt 1393

<210> 3

<211> 1378

<212> rARN

<213> *Bacillus licheniformis*

<400> 3

gcttgctccc tgatgttagc ggccggacggg tgagtaacac gtgggtaacc tgcctgtaag 60
 actgggataa ctccgggaaa cgggggctaa taccggatgc ttgattgaac cgcattggttc 120
 aattataaaa ggtggctttt agctaccact tacagatgga cccgcggcgc attagctagt 180
 tggtagagga acggctcacc aaggcaacga tgcgtagccg acctgagagg gtgacggcc 240
 acactgggac tgagacacgg cccagactcc tacgggaggg agcagtaggg aatcttccgc 300
 aatggacgaa agtctgacgg agcaacgccg cgtgagtgat gaaggttttc ggatcgtaaa 360
 actctgttgt tagggaagaa caagtaccgt tcgaataggg cggtagcttg acggtacctt 420
 accagaaagc cacggctaac tacgtgccag cagccgcggg aatacgtagg tggcaagcgt 480
 tgtccggaat tattgggcgt aaagcgcgcg caggcggttt cttaagtctg atgtgaaagc 540
 ccccggtcca accggggagg gtcattggaa actggggaac ttgagtgcag aagaggagag 600
 tggaattcca cgtgtagcgg tgaaatgcgt agagatgtgg aggaacacca gtggcgaagg 660
 cgactctctg gtctgtaact gacgtgagg cgcgaaagcg tggggagcga acaggattag 720
 ataccctggg agtccacgcc gtaaacgatg agtgctaagt gttagagggt ttccgccctt 780
 tagtgctgca gcaaacgcat taagcactcc gcctggggag tacggtcgca agactgaaac 840
 tcaaaggaat tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac 900
 gcgaagaacc ttaccaggtc ttgacatcct ctgacaaccc tagagatagg gcttcccctt 960
 cgggggcaga gtgacagggt gtgcatggtt gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt 1020
 taagtccgcg aacgagcgca acccttgatc ttagttgcca gcattcagtt gggcactcta 1080
 aggtgactgc cggtgacaaa ccggaggaag gtggggatga cgtcaaatca tcatgccctt 1140
 tatgacctgg gctacacacg tgctacaatg gccagaacaa agggcagcga agccgcgagg 1200
 ctaagccaat cccacaaatc tgttctcagt tcggatcgca gtctgcaact cgactgcgtg 1260
 aagctggaat cgtagtaat cgcggatcag catgccgcgg tgaatacgtt cccgggcctt 1320
 gtacacaccg cccgtcacac cacgagagtt tgtaacaccc gaagtcggtg aggtaacc 1378

<210> 4

<211> 1404

<212> rARN

<213> *Bacillus tenquilensis*

<400> 4

```

gtcgagcgga cagatgggag cttgctccct gatgttagcg gcggacgggt gagtaacacg 60
tgggtaacct gcctgtaaga ctgggataac tccgggaaac cggggctaata accggatgct 120
tgtttgaacc gcaaggttca aacataaaag gtggcttcgg ctaccactta cagatggacc 180
cgcggcgcac tagttagttg gtgaggtaac ggctcaccaa ggcaacgatg cgtagccgac 240
ctgagaggggt gatcgccac actgggactg agacacggcc cagactocta cgggaggcag 300
cagtagggaa tcttccgcaa tggacgaaag tctgacggag caacgccgcg tgagtgatga 360
aggttttcgg atcgtaaagc tctgttgta gggaagaaca agtaccgttc gaatagggcg 420
gtacctgac ggtacctaac cagaaagcca cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa 480
tacgtaggtg gcaagcggtg tccggaatta ttgggcgtaa agggctcgca ggcggtttct 540
taagtctgat gtgaaagccc ccggctcaac cggggagggt cattggaaac tggggaactt 600
gagtgcagaa gaggagagtg gaattccacg tgtagcgtg aaatgcgtag agatgtggag 660
gaacaccagt ggcgaaggcg actctctggt ctgtaactga cgctgaggag cgaaagcggtg 720
gggagcgaac aggattagat accctggtag tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt 780
taggggggtt cgcacctta gtgtgcagc taacgcatta agcactccgc ctggggagta 840
cggctcgcaag actgaaactc aaaggaattg acggggggccc gcacaagcgg tggagcatgt 900
ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt accaggtctt gacatcctct gacaatccta 960
gagataggac gtccccctcg ggggcagagt gacaggtggt gcatggttgt cgtcagctcg 1020
tgtcgtgaga tgttggtta agtcccgcaa cgagcgcaac ccttgatctt agttgccagc 1080
attcagttgg gcactctaag gtgactgccg gtgacaaacc ggaggaaggt ggggatgacg 1140
tcaaatcatc atgcccccta tgacctgggc tacacacgtg ctacaatgga cagaacaaag 1200
ggcagcgaac ccgcgaggtt aagccaatcc cacaatctg ttctcagttc ggatcgagc 1260
ctgcaactcg actgcgtgaa gctggaatcg ctagtaatcg cggatcagca tgccgcggtg 1320
aatacgttcc cgggccttgt acacaccgcc cgtcacacca cgagagtttg taacaccgga 1380
agtcggtgag gtaaccttta ggag

```

1404